

LB medie

Protokollen er fundet på [openwetware.org](http://www.openwetware.org/wiki/LB) (<http://www.openwetware.org/wiki/LB>) oversat til dansk af Viktor Hesselberg-Thomsen, Biotech Academy.

Indledning

Denne protokol beskriver hvordan du forbereder LB medie. LB medie er godt basis medie til *E. coli* som anvendes til at lave Biotech Academy's Biosensor øvelse. Denne protokol beskriver forberedelsen af både fast og flydende form. Begge typer kan tilsætte antibiotika og acetylsalicylsyre (bruges i Biosensor Case 2). Til Biosensor øvelsen bruges 10 µg/ml Chloramphenicol.

LB medie (1 L)

Mulig fremgangsmåde

- Start med at opmåle 900 mL demineraliseret vand og tilsæt til en kolbe med skruelåg
- Læg en stangmagnet i og sæt kolben på en magnetomrører
- Opmål nu ingredienserne om tilsæt dem til kolben efterhånden som de er opvejet.

Ingredienser	Mængde
Bacto-trytone	10 g
Gær ekstrakt (Yeast extract)	5 g
NaCl	10 g
(Agar)	(15 g)

- Sørg for at alle ingredienser er godt opløst
- Juster pH til 7.0 med NaOH eller HCl
- Fyld demineraliseret vand op til 1 L
- Autoklavér mediet

LB medie uden agar

- Lad medie køle til minimum 60 °C
- Tilsæt evt. antibiotika
 - For at opnå en koncentration på 10 µg/ml chloramphenicol tilsæt 1 mL af 1 % opløsning af chloramphenicol til 1 L LB medie.
- Opbevar ved 4 °C

LB med agar

- Lad medie køle til 50 – 60 °C
- Tilsæt evt. antibiotika (og acetylsalicylsyre opløsning)
 - For at opnå en koncentration på 10 µg/ml chloramphenicol tilsættes 1 mL af 1 % opløsning af chloramphenicol til 1 L LB medie.
 - For at opnå en koncentration på 1 mmol/L acetylsalicylsyre tilsættes 36 mL acetylsalicylsyre (Se nedenfor) opløsning til 1 L LB medie
- Hæld mediet i petriskåle inden det nedkøler
- Lad medie tørre i nogle timer
- Opbevares 4 °C

Acetylsalicylsyre opløsning

Når du skal lave medie med acetylsalicylsyre kan du med fordel først lave en opløsning med acetylsalicylsyre i vand. Under vores tests af Biosensor Case 2 har vi brugt Treo opløst i vand som vi har tilsat LB medie med chloramphenicol. Forsøget bør også fungerer med rent acetylsalicylsyre eller ved at opløse Kodimagnyl pille i vand . Her er en guide til hvordan du laver en acetylsalicylsyre opløsning med en Treo tablet:

1. Tilsæt 1 treo tablet til 100 mL autoklaveret destilleret vand i en flaske.
2. Lad det opløse.
3. Påsæt sikkerhedslabel med flaskens indhold (sikkerhedslabel er i kittet).
4. Opbevar opløsningen i køleskabet.

Acetylsalicylsyre opløsningen kan du nu benytte til at lave LB agarplader med chloramphenicol og acetylsalicylsyre. Til 100 mL LB medie skal der benyttes 3,6 mL treoopløsning.